



Bouillon caséine-soja modifié (mTSB base)

DOMAINE D'UTILISATION

Le bouillon caséine-soja modifié, appelé par les Anglo-Saxons « modified Tryptone Soy Broth » ou mTSB, est un milieu d'enrichissement utilisé pour la recherche des sérotypes pathogènes d'*Escherichia coli*, notamment le sérotype O157:H7, dans les produits alimentaires et tous les prélèvements d'origine animale susceptibles d'en contenir.

HISTORIQUE

De nombreux auteurs ont utilisé avec succès le bouillon caséine-soja modifié pour l'enrichissement sélectif d'*Escherichia coli* O157:H7. La formule de base du milieu est celle du bouillon caséine-soja, modifiée par l'adjonction de 1,5 g/L de phosphate dipotassique et de 1,5 g/L de sels biliaires. En 1987, Doyle *et al.* ont préconisé l'addition de 20 mg/L de Novobiocine pour renforcer la sélectivité du milieu et augmenter le taux de détection d'*Escherichia coli* O157:H7.

PRINCIPES

- La base nutritive du bouillon caséine-soja, constituée par l'association entre la Tryptone, la peptone papaïnique de soja et le glucose, permet d'obtenir une croissance optimale d'*Escherichia coli* O157:H7.
- La présence simultanée de sels biliaires et de novobiocine assure l'inhibition des microorganismes à Gram positif ainsi que de certains à Gram négatif, notamment les *Proteus*.
- Le phosphate dipotassique agit comme substance tampon. En maintenant le pH, il permet d'augmenter la capacité de récupération du bouillon.

PREPARATION

- Mettre en solution 33,0 g de milieu de base déshydraté (BK150) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement, jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en flacons à raison de 225 mL par flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

MODE D'EMPLOI

- Refroidir à 25°C.
- Ajouter stérilement 2,25 mL de supplément sélectif Novobiocine 10 mg reconstitué (BS033) par flacon.
- Introduire aseptiquement 25 g de produit par flacon.
- Homogénéiser parfaitement.
- Incuber à 41,5°C.
- Après 6 heures d'incubation, prélever stérilement un aliquot de la culture, réaliser un enrichissement à l'aide d'un système immunomagnétique et effectuer un isolement sur gélose CT-SMAC (BK147 + BS037).
- Après 24 heures d'incubation, procéder à un nouvel isolement sur gélose CT-SMAC.

FORMULE - TYPE du milieu complet

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....17,0 g
- Peptone papainique de soja 3,0 g
- Glucose.....2,5 g
- Sels biliaires n°3 1,5 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Phosphate dipotassique 4,0 g
- Novobiocine 20,0 mg

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre crème, fluide et homogène.
- Milieu préparé (complet) : solution ambrée, limpide.
- Réponse culturale typique après 24 heures d'incubation à 41,5°C, puis subculture sur gélose CT-SMAC :

Microorganismes		Croissance
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	ATCC® 43895	≥ 10 colonies caractéristiques
+ <i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	
+ <i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 29906	
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	ATCC 35150	≥ 10 colonies caractéristiques
+ <i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048	
+ <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 13315	inhibée, score 0
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	inhibée, score 0

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu de base déshydraté : 2-30°C.

- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu de base préparé en flacons : 3 mois à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).
- Milieu complet préparé en flacons, avec supplément : 30 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).

Supplément sélectif Novobiocine 10 mg :

- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

PRESENTATION

Code

Milieu de base déshydraté (sans Novobiocine) :

- Flacon de 500 g

BK150HA

Supplément sélectif Novobiocine 10 mg :

- Coffret de 10 flacons

BS03308

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Doyle, M.P., and J.L. Schoeni. 1987. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. Appl. Envir. Microbiol. 53: 2394-2396.

Feldsine, P.T., M.T. Falbo-Nelson, S.L. Brunelle, and R.L. Forgey. 1997. Assurance Enzyme Immunoassay for the Detection of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in Selected Foods: Collaborative Study. Journal of AOAC International. 80: 530-543.

NF EN ISO 16654 (V 08-032). Juillet 2001. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche des *Escherichia coli* O157.

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2009-02-09.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BK150/F/2001-09 : 4.